



## บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

### ผลการวิเคราะห์

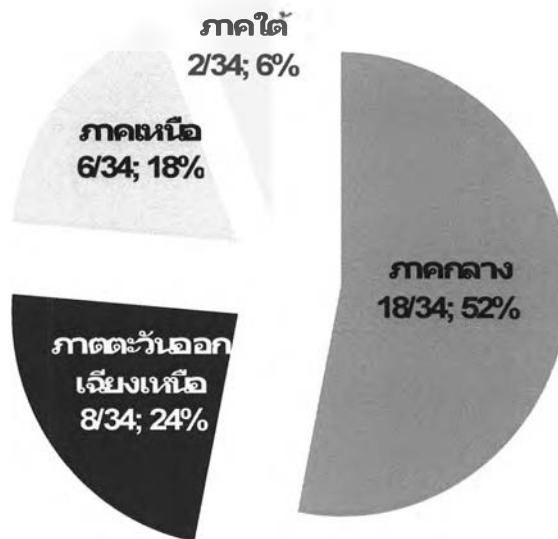
#### กลุ่มประชากร

ในการศึกษาครั้งนี้มีประชากรเข้าร่วมโครงการวิจัยทั้งหมด 66 ราย แบ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไต 34 ราย และกลุ่มควบคุม 32 ราย กลุ่มควบคุมนั้นเป็นผู้ที่มีสุขภาพดีไม่มีประวัติการเป็นนี้้วนไตและความผิดปกติของทางเดินปัสสาวะอื่นๆและมีอายุและเพศที่ตรงกับกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไต พบว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไตจำนวน 34 ราย แบ่งเป็นเพศชาย 14 ราย เพศหญิง 20 ราย กลุ่มควบคุมจำนวน 32 ราย แบ่งเป็นเพศชาย 10 ราย เพศหญิง 22 ราย ค่า mean ของอายุของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไตเท่ากับ 43.6 ปี ค่า median เท่ากับ 47.5 ปี (มีช่วงอายุตั้งแต่ 18-67) ค่า mean ของอายุของกลุ่มควบคุม เท่ากับ 37.8 ปี ค่า median เท่ากับ 40 ปี (มีช่วงอายุตั้งแต่ 20-58) เพศและอายุของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไตและกลุ่มควบคุม มีค่าใกล้เคียงกัน ค่า mean และ median ของดัชนีมวลกาย (Body Mass Index, BMI) ของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไตสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.016$ ) ดังตารางที่ 2

ลักษณะของกลุ่มประชากรศึกษา	กลุ่มควบคุม	กลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไต	P value
จำนวนประชากรศึกษา	32	34	
เพศ (ชาย:หญิง)	10:22	14:20	
อายุ (mean: SD)	37.8: 11.0	43.6: 13.3	0.028*
(median: min-max)	40.0: 20-58	47.5: 18-67	
BMI (mean: SD)	22.3: 2.8	24.6: 4.3	0.016*
(median: min-max)	21.5: 18.3-31.1	24.0: 17.6-36.9	

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มประชากรศึกษา (\* = มีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบโดยใช้ Mann-Whitney test,  $P < 0.05$ )

เมื่อศึกษาภูมิถ้านาของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไตในงานวิจัยนี้ พบว่าผู้ป่วยโรคนี้้วนไตส่วนใหญ่มีภูมิถ้านาอยู่ในภาคกลาง (18/34, 52%) รองลงมาคือ มีภูมิถ้านาอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (8/34, 24%) ภาคเหนือ (6/34, 18%) และภาคใต้ (2/34, 6%) ดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 แสดงภูมิตำแหน่งของผู้ป่วยโรคนิวไทด์

#### การศึกษาปัจจัยเสี่ยงทางเมแทบอลิกของการเกิดนิวไทด์

เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ปัจจัยทางเมแทบอลิกและปัจจัยเสี่ยงของการเกิดนิวไทด์ซึ่งทำการเปรียบเทียบกัน ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วย โรคนิวไทด์ พบว่าปริมาณของปีศาจวะ 24 ชั่วโมง ในกลุ่มผู้ป่วย โรคนิวไทด์มีปริมาณน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.027$ ) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างของค่าความเป็นกรด-ด่างในปีศาจวะ ( $P = 0.172$ ) และระดับของครีเอตินิน ( $P = 0.078$ ) ในปีศาจวะระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วย โรคนิวไทด์

เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยทางเมแทบอลิกในปีศาจวะ พบว่าค่าแคลเซียม ( $P = 0.101$ ) ออกซาเลต ( $P = 0.352$ ) กรดยูริก ( $P = 0.763$ ) และแมกนีเซียม ( $P = 0.093$ ) ในปีศาจวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วย โรคนิวไทด์นั้นมีความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ระดับของฟอสเฟตในปีศาจวะของกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไทด์อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ ) กลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไทด์มีระดับซีเทรต และ โฟแทสเซียมในปีศาจวะต่ำกว่าในปีศาจวะของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ ) (ตารางที่ 3) ซึ่งทั้งซีเทรตและ โฟแทสเซียมเป็นสารยับยั้งการเกิดนิวไทด์ที่สำคัญ

Characteristic and Metabolic profile	Disease status		P value
	Healthy (n=32)	Renal stone patient (n=34)	
24-hr urine volume (ml)			
mean: SD	2142.50: 773.00	1652.52: 804.50	0.027*
median: min-max	2135: 810-4050	1850: 180-3190	
Urine pH			
mean: SD	6.40: 0.27	6.30: 0.73	0.172
median: min-max	6.41: 5.83-6.88	6.26: 5.25-9.10	
Creatinine (g/d)			
mean: SD	0.95: 0.43	0.78: 0.46	0.078
median: min-max	0.79: 0.44-2.17	0.71: 0.09-2.57	
Calcium (mg/d)			
mean: SD	76.30: 48.98	60.89, 53.26	0.101
median: min-max	66.71: 8.51-216.75	41.60: 2.18-217.96	
Oxalate (mmol/d)			
mean: SD	0.25: 0.32	0.27: 0.29	0.352
median: min-max	0.10: 0.0013-1.28	0.14: 0.009-1.04	
Phosphate (g/d)			
mean: SD	0.61: 0.28	0.41: 0.25	<0.001*
median: min-max	0.56: 0.21-1.43	0.34: 0.04-1.08	
Uric acid (mg/d)			
mean: SD	493.38: 292.55	462.89: 251.83	0.763
median: min-max	444.31: 98.87-1198.86	455.40: 41.4-1202.24	
Citrate (mg/d)			
mean: SD	270.43: 141.82	60.32: 53.74	<0.001*
median: min-max	262.15: 30.65- 552.92	45.86: 0.97-235.78	
Potassium (meq/d)			
mean: SD	32.23: 15.84	21.03: 14.49	<0.001*
median: min-max	28.43: 11.32-86.70	15.91: 2.52-66.03	
Magnesium (mg/d)			
mean: SD	51.91: 25.38	41.86: 27.96	0.093
median: min-max	54.74: 1.78- 117.03	37.69, 1.14-101.84	

ตารางที่ 3 แสดงระดับของปัจจัยเสี่ยงทางเมแทบอลิซึมของการเกิดนิ่วในปัสสาวะเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต (\* = มีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบโดยใช้ Mann-Whitney test,  $P < 0.05$ )

#### การศึกษาภาวะการทำลายเซลล์เยื่อบุท่อไตและภาวะเครียดจากออกซิเดชัน

การศึกษานี้ใช้ตัวบ่งชี้ (marker) สำหรับภาวะการทำลายเซลล์เยื่อบุท่อไต คือ *N*-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase (NAG) และโปรตีนในปัสสาวะ และ ตัวบ่งชี้สำหรับภาวะเครียดจากออกซิเดชัน คือ malondialdehyde (MDA) และ 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) ผลการศึกษา พบว่าระดับของเอนไซม์ *N*-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ ) ซึ่งสอดคล้องกับระดับโปรตีนในปัสสาวะที่พบสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ )

เมื่อพิจารณาผลที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียดจากออกซิเดชันพบว่าระดับผลผลิตของปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของลิพิด (MDA) ในปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตนั้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.724$ ) แต่พบว่า ค่าผลผลิตของปฏิกิริยาออกซิเดชันของ DNA adduct (8-OHdG) ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.016$ ) (ตารางที่ 4) แสดงว่าผู้ป่วยโรคนิ่วไตมีภาวะเครียดจากออกซิเดชันและภาวะการทำลายเซลล์บุท่อไตสูงกว่าคนปกติ

Marker of tubular epithelial cell injury and oxidative stress	Disease status		P value
	Healthy (n=32)	Renal stone patient (n=34)	
NAG (U/gCr)			
mean: SD	4.97: 3.26	16.96: 17.29	<0.001*
median: min-max	3.93: 0.89-15.42	10.11: 0.25-77.53	
Protein (g/gCr)			
mean: SD	0.12: 0.07	0.44: 0.47	<0.001*
median: min-max	0.11: 0.02-0.28	0.30: 0.04-2.23	
MDA (umol/gCr)			
mean: SD	6.32: 1.61	6.57: 3.30	0.724
median: min-max	6.24: 3.38-9.73	5.99: 1.68-17.59	
8-OHdG (ug/gCr)			
mean: SD	7.06: 5.40	10.46: 7.92	0.016*
median: min-max	5.85: 2.14-25.71	8.14: 2.82-40.73	

ตารางที่ 4 แสดงระดับของตัวบ่งชี้ ของภาวะการทำลายเซลล์เยื่อหุ้มท่อไตและภาวะเครียดจากออกซิเดชั่นเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต (\* = มีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบโดยใช้ Mann-Whitney test,  $P < 0.05$ )

#### ผลการวิเคราะห์ความผิดปกติทางเมแทบอลิก

การศึกษานี้ประเมินภาวะความผิดปกติทางเมแทบอลิกในกลุ่มประชากรศึกษาโดยใช้เกณฑ์อ้างอิงตามตารางที่ 5

Metabolic abnormality	Cutoff value
Hypercalciuria	> 200 mg/d (or > 4 mg/Kg/d)
Hyperoxaluria	> 0.45 mmol/d (or >40 mg/d)
Hyperphosphaturia	> 0.9 g/d
Hyperuricosuria	> 600 mg/d
Hypocitraturia	< 250 mg/d
Hypokaliuria	< 30 mEq/d
Hypomagnesiuria	< 50 mg/d

ตารางที่ 5 แสดงค่าอ้างอิงของปัจจัยเสี่ยงทางเมแทบอลิกที่เป็นสาเหตุของการเกิดนิ่ว

เมื่อพิจารณาถึงความผิดปกติทางเมแทบอลิกเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตและกลุ่มควบคุมพบว่า ในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต พบภาวะแคลเซียมในปัสสาวะสูง 1 ราย (2.9%) จาก 34 ราย ขณะที่กลุ่มควบคุม พบภาวะแคลเซียมในปัสสาวะสูง 1 ราย (3.1%) จาก 32 ราย ซึ่งสัดส่วนการพบภาวะแคลเซียมในปัสสาวะสูงในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.965$ ) ในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต พบภาวะออกซาเลตในปัสสาวะสูง 7 ราย (20.6%) จาก 34 ราย ขณะที่กลุ่มควบคุมพบภาวะออกซาเลตในปัสสาวะสูง 6 ราย (18.8%) จาก 32 รายซึ่งสัดส่วนการพบภาวะออกซาเลตในปัสสาวะสูงในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.851$ ) ในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต พบภาวะฟอสเฟตในปัสสาวะสูง 3 ราย (8.8%) จาก 34 ราย ขณะที่กลุ่มควบคุมพบภาวะฟอสเฟตในปัสสาวะสูง 6 ราย (18.8%) จาก 32 รายซึ่งสัดส่วนการพบภาวะฟอสเฟตในปัสสาวะสูงในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.297$ ) พบภาวะกรดยูริกในปัสสาวะสูง 8 ราย (23.5%) จากผู้ป่วยโรคนิ่วไต 34 ราย และพบภาวะกรดยูริกในปัสสาวะสูง 10 ราย (31.3%) จากกลุ่มควบคุม 32 ราย ซึ่งการพบภาวะกรดยูริกในปัสสาวะสูงในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตและในกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.482$ ) ในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต พบภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำทั้ง 34 ราย (100%) ส่วนกลุ่มควบคุม พบภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ 14 ราย (43.8%) จาก 32 ราย ซึ่งในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตพบภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำมากกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ ) ในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต พบภาวะโพแทสเซียมในปัสสาวะต่ำ 27 ราย (79.4%) จาก 34 ราย ส่วนกลุ่มควบคุม พบภาวะโพแทสเซียมในปัสสาวะต่ำ 17 ราย (53.1%) จาก 32 ราย ซึ่งในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตพบภาวะโพแทสเซียมในปัสสาวะต่ำมากกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.024$ ) ในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต พบภาวะแมกนีเซียมในปัสสาวะต่ำ 22 ราย (64.7%) จาก 34 ราย กลุ่มควบคุม

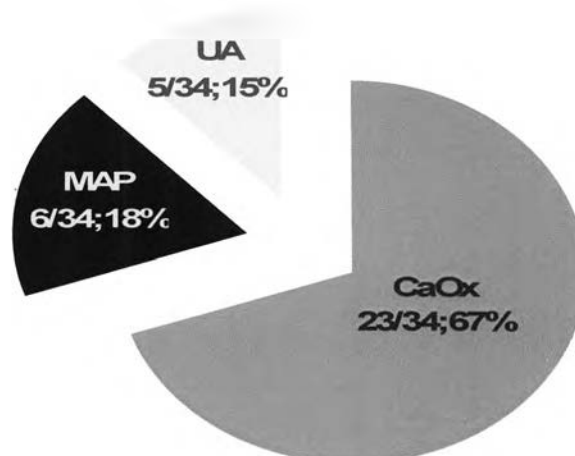
พบภาวะแมกนีเซียมในปัสสาวะต่ำ 15 ราย (46.9%) จาก 32 ราย ซึ่งในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วัดและกลุ่มควบคุมพบภาวะแมกนีเซียมในปัสสาวะต่ำไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.145$ ) (ตาราง ที่ 6)

Metabolic abnormality	Disease status		P value
	Healthy (n=32)	RSP (n=34)	
Hypercalciuria			
- No	31 (96.9%)	33 (97.1%)	0.965
- Yes	1 (3.1%)	1 (2.9%)	
Hyperoxaluria			
- No	26 (81.3%)	27 (79.4%)	0.851
- Yes	6 (18.8%)	7 (20.6%)	
Hyperphosphaturia			
- No	26 (81.3%)	31 (91.2%)	0.297
- Yes	6 (18.8%)	3 (8.8%)	
Hyperuricosuria			
- No	22 (68.7%)	26 (76.5%)	0.482
- Yes	10 (31.3%)	8 (23.5%)	
Hypocitraturia			
- No	18 (56.3%)	0 (0%)	<0.001*
- Yes	14 (43.8%)	34 (100%)	
Hypokaliuria			
- No	15 (46.9 %)	7 (20.6%)	0.024*
- Yes	17 (53.1%)	27 (79.4%)	
Hypomagnesiuria			
- No	17 (51.3%)	12 (35.3%)	0.145
- Yes	15 (46.9%)	22 (64.7%)	

ตารางที่ 6 แสดงความถี่ของความผิดปกติทางเมแทบอลิซึมที่พบในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วัดเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (\* = มีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบโดยใช้ Chi-square test,  $P < 0.05$ )

### ผลการวิเคราะห์ชนิดของนิ่วและเปรียบเทียบปัจจัยเสี่ยงทางเมแทบอลิกลงในนิ่วแต่ละชนิด

ผลการวิเคราะห์ชนิดของก้อนนิ่วของผู้ป่วยโรคนิ่วไตจำนวน 34 ราย พบว่าเป็นนิ่วชนิดแคลเซียมออกซาลेट 23 ราย (23/34, 67%) นิ่วแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต 6 ราย (6/34, 18%) และนิ่วกรดยูริก 5 ราย (5/34, 15%) ดังรูปที่ 9



รูปที่ 9 แสดงชนิดของก้อนนิ่วของผู้ป่วยโรคนิ่วไต (CaOx = นิ่วแคลเซียมออกซาลेट, MAP = นิ่วแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต, UA = นิ่วกรดยูริก)

ตารางที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบปัจจัยเสี่ยงทางเมแทบอลิกลงของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตจำนวน 34 ราย ในนิ่วแต่ละชนิด การเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ด่างของปัสสาวะในผู้ป่วยที่เป็นนิ่วแต่ละชนิด พบว่านิ่วชนิดแคลเซียมออกซาลेटมีค่า median ของค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.25 (มีช่วงของค่า pH ตั้งแต่ 5.54-7.47) นิ่วชนิดแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต มีค่า median ของค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.86 (มีช่วงของค่า pH ตั้งแต่ 6.55-9.1) และนิ่วชนิดกรดยูริกมีค่า median ของค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.44 (มีช่วงของค่า pH ตั้งแต่ 5.25-5.99) ซึ่งพบว่าเมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ Kruskal-Wallis test พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของนิ่วทั้ง 3 ชนิดมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ ) และจากผลของการทำ multiple comparison โดยใช้ Bonferroni test พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของปัสสาวะในผู้ป่วยนิ่วชนิดกรดยูริกนั้นต่ำกว่าผู้ป่วยนิ่วชนิดแคลเซียมออกซาลेट ( $P = 0.043$ ) และผู้ป่วยนิ่วชนิดแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต ( $P < 0.001$ ) อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างของปัสสาวะในผู้ป่วยนิ่วชนิดแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต สูงกว่าทั้งในผู้ป่วยนิ่วชนิดแคลเซียมออกซาลेट ( $P = 0.003$ ) และผู้ป่วยนิ่วชนิดกรดยูริก ( $P < 0.001$ ) อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่าปัจจัยเสี่ยงทางเมแทบอลิกลงในปัสสาวะ ทั้งระดับของแคลเซียม ออกซาลेट ฟอสเฟต กรดยูริก โพแทสเซียม ซิทเรต และแมกนีเซียม นั้นไม่มีความ



แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในนิวทั้ง 3 ชนิด นั่นคือการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปกติทางเมแทบอลิคและชนิดของก้อนนิว (ตารางที่ 7)

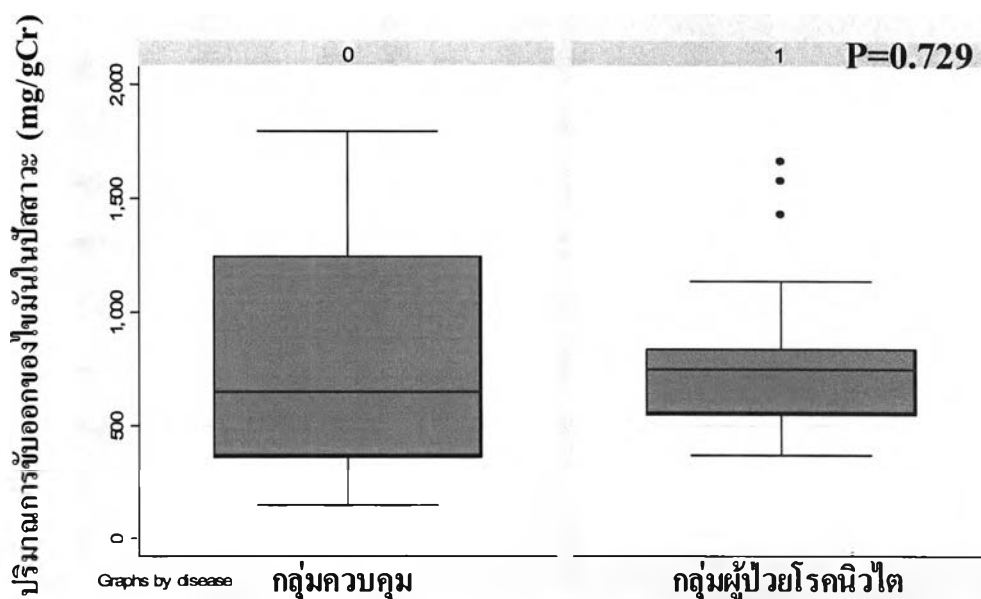
Variable	CaOx stone (n=23)	MAP stone (n=6)	UA stone (n=5)	P value
Urine pH median: min-max	6.25: 5.54-7.47	6.86: 6.55-9.10	5.44: 5.25-5.99	<0.001*
Calcium (mg/d) median: min-max	54.25 : 8.77-217.96	12.83: 9.26-171.62	26.98: 2.18-94.43	0.087
Oxalate (mmol/d) median: min-max	0.13: 0.03-1.04	0.23: 0.14-0.54	0.06: 0.01-0.76	0.157
Phosphate (g/d) median: min-max	0.34: 0.04-1.08	0.40: 0.15-0.96	0.33: 0.16-1.05	0.890
Uric acid (mg/d) median: min-max	469.45: 41.4-1202.24	446.97: 104.00-1087.79	330.82:145.32-839.16	0.850
Potassium (meq/d) median: min-max	15.51: 2.52-63.58	20.13: 7.20-66.03	26.60: 7.56-37.74	0.590
Citrate (mg/d) median: min-max	58.44: 2.92-235.78	46.71: 0.97-176.44	24.93: 10.44-81.50	0.350
Magnesium (mg/d) median: min-max	38.33: 4.39-100.86	43.88: 1.14-101.44	25.70: 6.09-101.84	0.970

ตารางที่ 7 แสดงปัจจัยทางเมแทบอลิคของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไตเปรียบเทียบในนิวแต่ละชนิด (\* = มีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบโดยใช้ Kruskal-Wallis test,  $P < 0.05$ ) (CaOx = นิวแคลเซียมออกซาเลต, MAP = นิวแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต, UA = นิวกรดยูริก)

#### ผลการวิเคราะห์ปริมาณการขับออกของไขมันในปัสสาวะ

การศึกษาปริมาณการขับออกของไขมันในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไตเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทำการศึกษาโดยนำตัวอย่างปัสสาวะ 24 ชั่วโมงมาปั่นที่ 10,000 x g เป็นเวลา 30 นาที ก่อนเพื่อตกตะกอนเซลล์และเศษเซลล์ต่าง ๆ แล้วนำส่วนใสมาสกัดไขมันออกมาโดยวิธีมาตรฐาน chloroform: methanol ผลการศึกษา พบว่าค่า median ของปริมาณการขับออกของไขมันในปัสสาวะกลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไตเท่ากับ 750.63 mg/gCr (514.97 mg/d) (มีค่าการขับออกของไขมัน

ในปัสสาวะตั้งแต่ 373.17-1661.62 mg/gCr) ค่า median ของปริมาณการขับออกของไขมันในปัสสาวะของกลุ่มควบคุมเท่ากับ 650.94 mg/gCr (675.31 mg/d) (มีค่าการขับออกของไขมันในปัสสาวะตั้งแต่ 146.67-1795.69 mg/gCr) ซึ่งเมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ Mann-Whitney test พบว่าปริมาณการขับออกของไขมันในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตและกลุ่มควบคุมนั้นมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.730$ ) ดังรูปที่ 10



รูปที่ 10 กราฟ Box whisker plot แสดงปริมาณการขับออกของไขมันในปัสสาวะ (mg/gCr) ของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

#### ผลการวิเคราะห์ปริมาณของไขมันในก้อนนี้วแต่ละชนิด

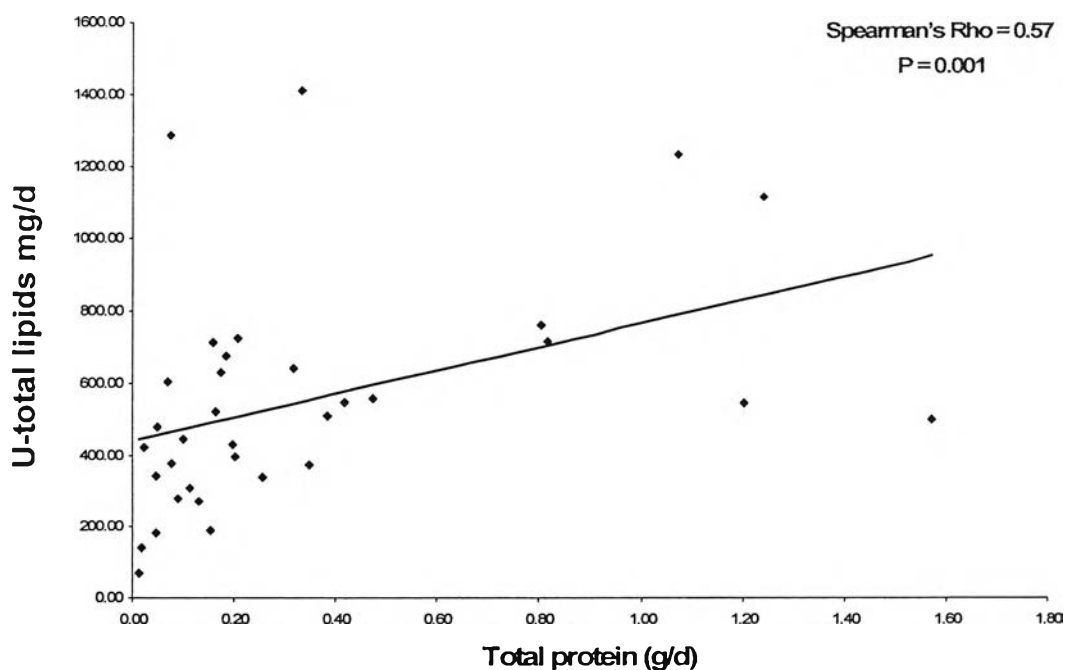
ในการศึกษาปริมาณของไขมันในก้อนนี้วแต่ละชนิด พบว่าค่า median ของปริมาณไขมันของนิวชนิดแคลเซียมออกซาลेटเท่ากับ 1.80 mg/g stone (มีช่วงของปริมาณไขมันตั้งแต่ 0.40-8.30) ค่า median ของปริมาณไขมันของนิวชนิดแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟตเท่ากับ 1.80 mg/g stone (มีช่วงของปริมาณไขมันตั้งแต่ 1.40-4.50) ค่า median ของปริมาณไขมันของนิวชนิดกรดยูริกเท่ากับ 1.00 mg/g stone (มีช่วงของปริมาณไขมันตั้งแต่ 0.60-2.00) ซึ่งปริมาณของไขมันในก้อนนี้วทั้ง 3 ชนิดนั้นมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.170$ ) ทดสอบโดย Kruskal-Wallis test (ตารางที่ 8) อย่างไรก็ตามพบแนวโน้มของการพบไขมันในก้อนนี้วชนิดกรดยูริกน้อยกว่าในนิวแคลเซียมออกซาลेटและนิวแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต

Variable	CaOx stone	MAP stone	UA stone	P-value
Number of cases	23	6	5	
Total lipids (mg/g stone)				
Mean: SD	2.32: 1.70	2.32: 1.17	1.24: 0.58	0.167
Median: min-max	1.80: 0.40-8.30	1.80: 1.40-4.50	1.00: 0.60-2.00	

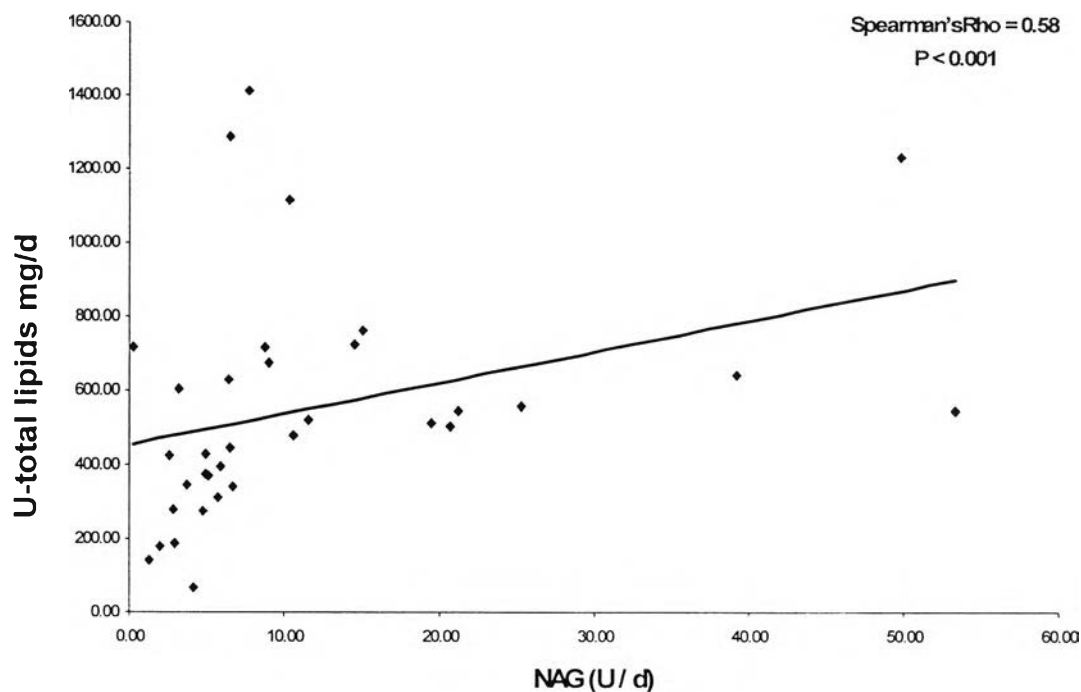
ตารางที่ 8 แสดงปริมาณของไขมันในก้อนนิ่วแต่ละชนิด (\* = มีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบโดยใช้ Kruskal-Wallis test,  $P < 0.05$ )

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะและภาวะการบาดเจ็บของเซลล์บุท่อไตและภาวะเครียดจากออกซิเดชันในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้่วไต

เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะและภาวะการบาดเจ็บของเซลล์บุท่อไตในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้่วไต พบว่าไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้่วไตนั้นมีความสัมพันธ์กับ ภาวะการบาดเจ็บของเซลล์บุท่อไตอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบความสัมพันธ์เชิงบวกกับ ปริมาณของโปรตีนที่ขับออกมาในปัสสาวะ (Spearman's Rho = 0.57,  $P = 0.001$ ) (รูปที่ 11ก) และระดับของเอนไซม์ NAG ในปัสสาวะ (Spearman's Rho = 0.58,  $P < 0.001$ ) (รูปที่ 11 ข)

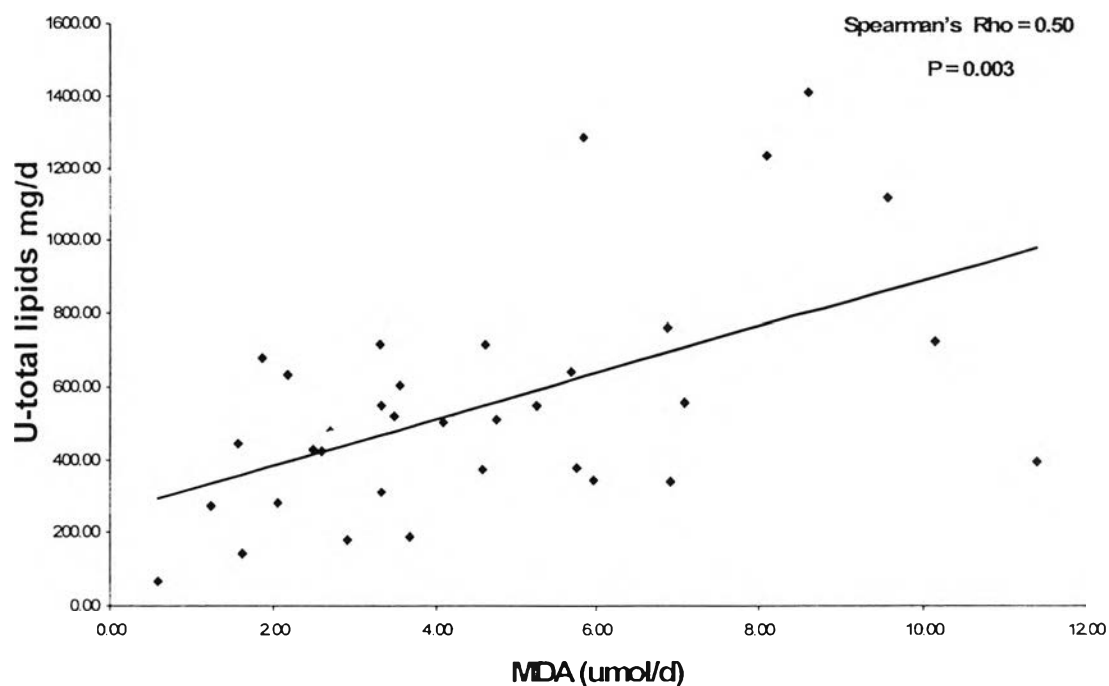


รูปที่ 11 ก กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะและปริมาณการขับออกของโปรตีน (total protein) ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้่วไต

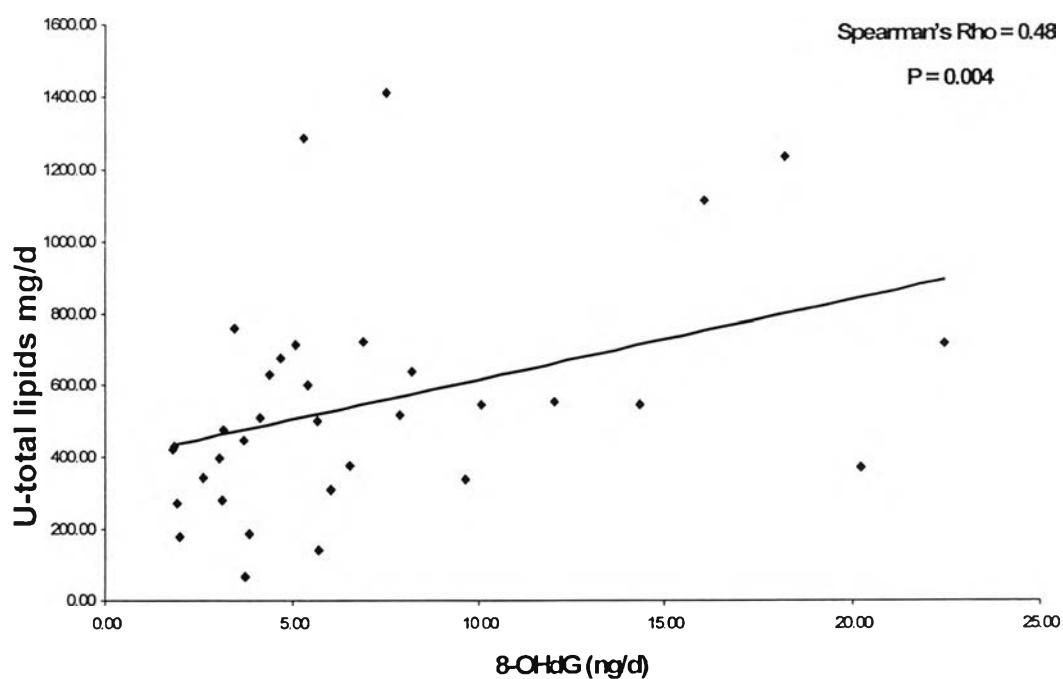


รูปที่ 11 ข กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะและระดับของเอนไซม์ NAG ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไต

เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะและภาวะเครียดจากออกซิเดชันในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไต พบว่าไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตนั้นมีความสัมพันธ์กับภาวะเครียดจากออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าผลิตผลของปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของลิพิด (MDA) (Spearman's Rho = 0.50, P = 0.003) (รูปที่ 12 ก) และค่าผลิตผลของปฏิกิริยาออกซิเดชันของ DNA adduct (8-OHdG) (Spearman's Rho = 0.48, P = 0.004) (รูปที่ 12 ข)



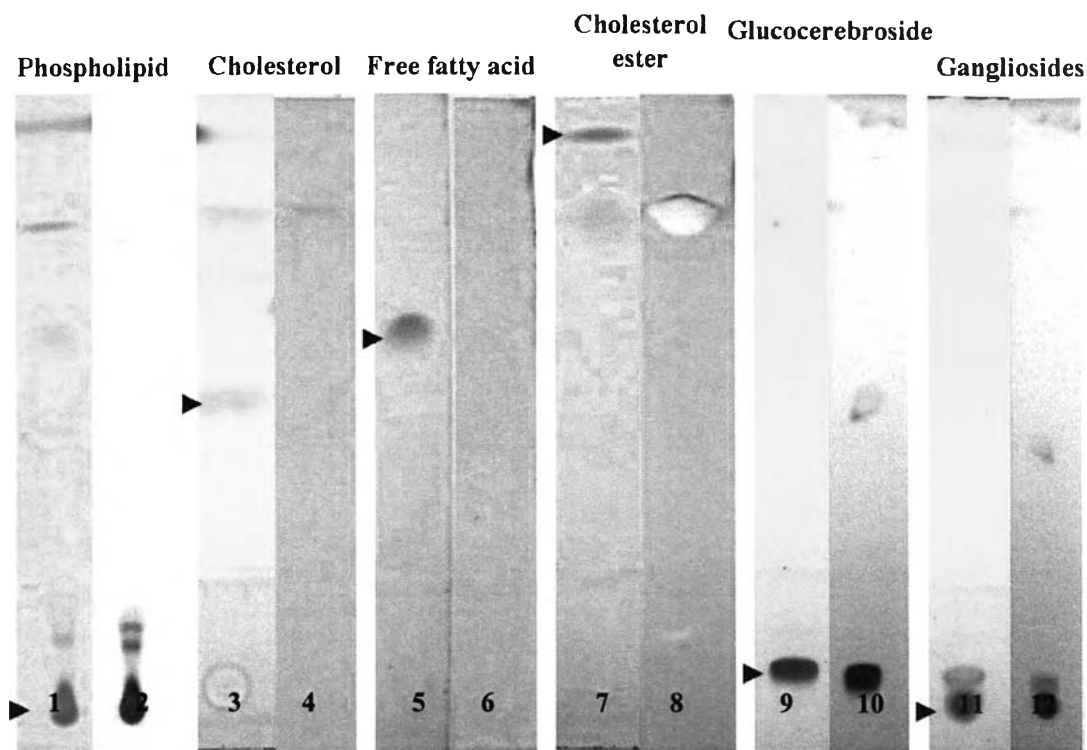
รูปที่ 12 ก กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะและปริมาณของ MDA ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคหัวใจ



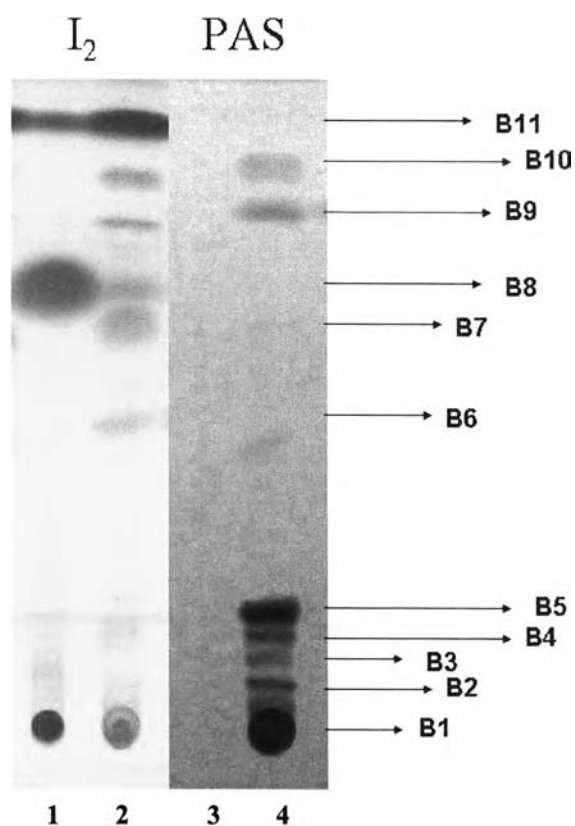
รูปที่ 12 ข กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะและปริมาณการขับออกของ 8-OHdG ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคหัวใจ

ผลการวิเคราะห์โปรไฟล์ (Profile) ของไขมัน โดยวิธี Multi-One-Dimension –Thin Layer Chromatography (MOD-TLC)

จากการจำแนกชนิดของไขมันมาตรฐาน และไขมันในปัสสาวะและก้อนเนื้อ ซึ่งทำการแยกโดยวิธี MOD-TLC และย้อมไขมันด้วยไอโอดีน (iodine: I<sub>2</sub> vapor) และ Periodic Acid Schiff (PAS staining) พบว่า ชนิดของไขมันที่จำแนกได้มีทั้งหมด 11 bands ดังรูปที่ 13 และรูปที่ 14 แต่ละ band ของไขมันมีค่า Rf ดังแสดงในตารางที่ 9



รูปที่ 13 แสดง Band ของชนิดของไขมันมาตรฐานที่จำแนกได้โดยวิธี MOD-TLC จากการย้อมโดยวิธีไอโอดีน (I<sub>2</sub> staining) และ Periodic Acid Schiff (PAS staining) lane ที่ 1 คือ phospholipids ที่ย้อมโดยวิธีไอโอดีน (I<sub>2</sub>) (Rf = 0), lane ที่ 2 คือ phospholipids ที่ย้อมโดยวิธี PAS, lane ที่ 3 คือ cholesterol ที่ย้อมโดยวิธีไอโอดีน (I<sub>2</sub>) (Rf = 0.42), lane ที่ 4 คือ cholesterol ที่ย้อมโดยวิธี PAS, lane ที่ 5 คือ free fatty acid ที่ย้อมโดยวิธีไอโอดีน (I<sub>2</sub>) (Rf = 0.54), lane ที่ 6 คือ free fatty acid ที่ย้อมโดยวิธี PAS, lane ที่ 7 คือ cholesterol ester ที่ย้อมโดยวิธีไอโอดีน (I<sub>2</sub>) (Rf = 0.94), lane ที่ 8 คือ cholesterol ester ที่ย้อมโดยวิธี PAS, lane ที่ 9 คือ glucocerebroside ที่ย้อมโดยวิธีไอโอดีน (I<sub>2</sub>) (Rf = 0.04), lane ที่ 10 คือ glucocerebroside ที่ย้อมโดยวิธี PAS, lane ที่ 11 คือ Gangliosides ที่ย้อมโดยวิธีไอโอดีน (I<sub>2</sub>) (Rf = 0), lane ที่ 12 คือ Gangliosides ที่ย้อมโดยวิธี PAS



รูปที่ 14 แสดง Band ของชนิดของไขมันในปัสสาวะและก้อนน้ำที่จำแนกได้โดยวิธี MOD-TLC จากการย้อม โดยวิธีไอโอดีน ( $I_2$  staining) และ Periodic Acid Schiff (PAS staining) lane ที่ 1 คือ ไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะ ที่ย้อมโดยวิธีไอโอดีน ( $I_2$ ), lane ที่ 2 คือ ไขมันที่สกัดได้จากก้อนน้ำ ที่ย้อมโดยวิธี ไอโอดีน ( $I_2$ ), lane ที่ 3 คือ ไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะ ที่ย้อมโดยวิธี PAS, lane ที่ 4 คือ ไขมันที่สกัดได้จากก้อนน้ำ ที่ย้อมโดยวิธี PAS

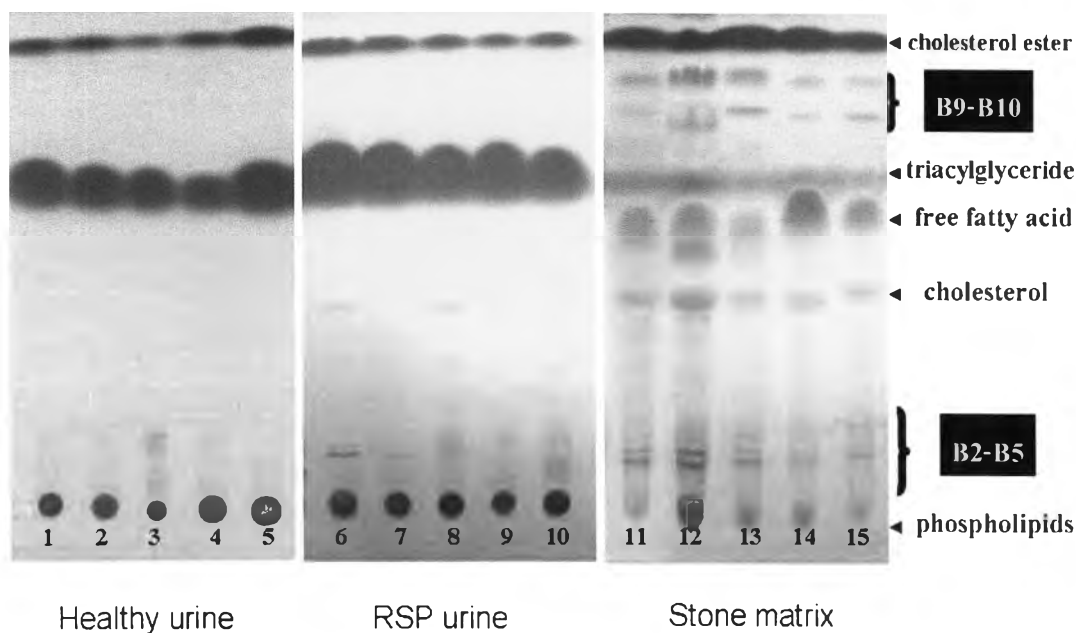
Band	Apparent Rf	Lipid classes identified based on Rf of standard lipids
Band 1 (B1)	0	Phospholipids/ gangliosides
Band 2 (B2)	0.011	Unknown
Band 3 (B3)	0.071	Unknown
Band 4 (B4)	0.144	Unknown
Band 5 (B5)	0.170	Unknown
Band 6 (B6)	0.417	Cholesterol
Band 7 (B7)	0.544	Free fatty acid
Band 8 (B8)	0.659	Triacylglyceride
Band 9 (B9)	0.783	Unknown
Band 10 (B10)	0.863	Unknown
Band 11 (B11)	0.944	Cholesterol ester

ตารางที่ 9 แสดงค่า Rf ของแต่ละ bands ของไขมันที่จำแนกได้

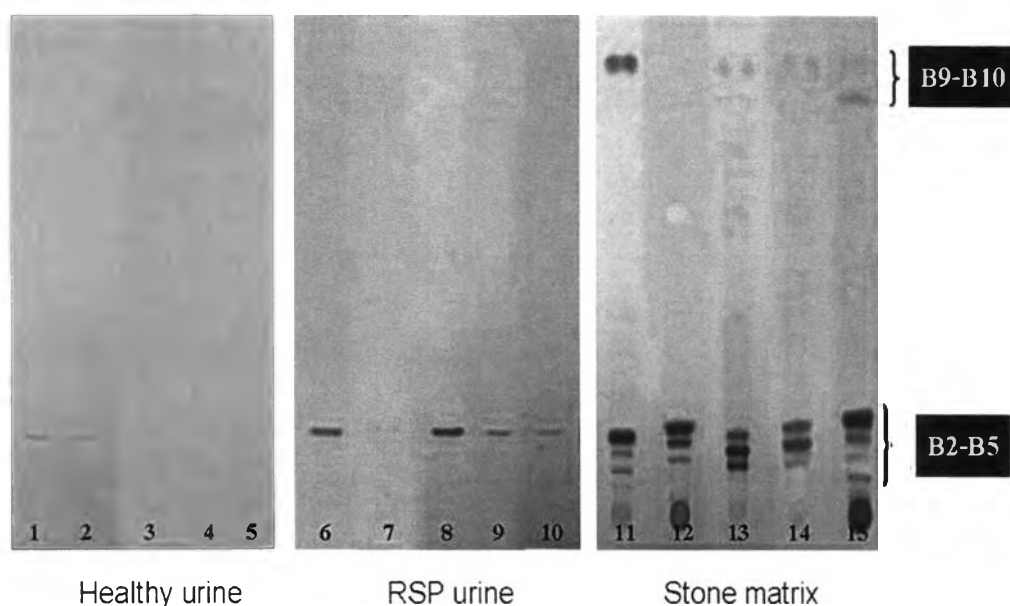
จากการจำแนกชนิดของไขมันในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ัวไต และกลุ่มควบคุม และในก้อนนี้ัว ซึ่งทำการแยกโดยวิธี MOD-TLC พบว่า ชนิดของไขมันที่พบในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ัวไตและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน แต่ในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนี้ัวไตจะมีโอกาสพบ band ของไขมันชนิดโคเลสเตอรอล (cholesterol; B6) มากกว่าปัสสาวะของกลุ่มควบคุม ส่วนชนิดของไขมันที่พบในก้อนนี้ัวของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ัวไตนั้นมีความแตกต่างจากชนิดของไขมันที่พบในปัสสาวะ โดยพบไขมันในก้อนนี้ัวได้หลากหลายชนิดมากกว่าที่พบในปัสสาวะ ที่น่าสนใจคือ ไขมันชนิดไตรเอซิลกลีเซอไรด์ (triacylglyceride; B8) พบได้น้อยมากหรือไม่มีเลยในก้อนนี้ัว ขณะที่พบ band นี้สูงมากในตัวอย่างปัสสาวะของทั้งกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ัวไตและกลุ่มควบคุม ส่วนไขมันชนิดฟอสโฟลิพิด (phospholipid; B1) และโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ (cholesterol ester; B11) จะพบได้ทั้งในปัสสาวะ และก้อนนี้ัว นอกจากนี้มีไขมันอีกอย่างน้อย 6 ชนิด คือ ไขมัน B2, B3, B4, B5, B9 และ B10 ที่พบได้บ่อยในก้อนนี้ัว แต่ไม่พบหรือพบได้น้อยมากในปัสสาวะ การศึกษานี้ยังไม่สามารถจำแนกได้แน่ชัดว่าไขมันเหล่านี้คือไขมันชนิดใด (รูปที่ 15 ก-15 ข)



จากการเปรียบเทียบ ไขมันในก้อนนิ่วแต่ละชนิด พบว่า นิ่วทั้งสามชนิด คือ นิ่วแคลเซียมออกซาเลต นิ่วแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต และนิ่วกรดยูริก มีรูปแบบและชนิดของไขมันที่คล้ายคลึงกัน นั่นคือ ไม่พบชนิดของไขมันที่จำเพาะกับนิ่วแต่ละชนิด ดังรูปที่ 18 ก-18 ข



รูปที่ 15 ก แสดงชนิดไขมันที่สกัดจากปัสสาวะของกลุ่มควบคุม (healthy urine) กลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต (RSP urine) และก้อนนิ่ว (stone matrix) ซึ่งจำแนกโดยวิธี MOD-TLC ย้อมโดยวิธีไอโอดีน ( $I_2$  staining) โดย lane ที่ 1-2 คือ ไขมันที่สกัดจากปัสสาวะของกลุ่มควบคุม (healthy urine), lane ที่ 6-10 คือ ไขมันที่สกัดจากปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต (RSP urine), lane ที่ 11-15 คือ ไขมันที่สกัดจากก้อนนิ่ว (stone matrix) โดย lane ที่ 11 เป็นนิ่วชนิดกรดยูริก, lane ที่ 12 เป็นนิ่วชนิดแคลเซียมออกซาเลต, lane ที่ 13 เป็นนิ่วชนิดกรดยูริก, lane ที่ 14 เป็นนิ่วชนิดแคลเซียมออกซาเลต และแคลเซียมฟอสเฟต และ lane ที่ 15 เป็นนิ่วชนิดแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต



รูปที่ 15 ข แสดงชนิดไขมันที่สกัดจากปัสสาวะของกลุ่มควบคุม (healthy urine) กลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต (RSP urine) และก้อนนิ่ว (stone matrix) ซึ่งจำแนกโดยวิธี MOD-TLC และย้อมโดยวิธี PAS staining โดย lane ที่ 1-2 คือ ไขมันที่สกัดจากปัสสาวะของกลุ่มควบคุม (healthy urine), lane ที่ 6-10 คือ ไขมันที่สกัดจากปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วย โรคนิ่วไต (RSP urine), lane ที่ 11-15 คือ ไขมันที่สกัดจากก้อนนิ่ว (stone matrix) โดย lane ที่ 11 เป็นนิวชนิดกรดยูริก, lane ที่ 12 เป็นนิวชนิดแคลเซียมออกซาเลต, lane ที่ 13 เป็นนิวชนิดกรดยูริก, lane ที่ 14 เป็นนิวชนิดแคลเซียมออกซาเลตและแคลเซียมฟอสเฟต และ lane ที่ 15 เป็นนิวชนิดแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต

จากการวิเคราะห์ความถี่ของการพบไขมันในแต่ละ band ไขมันที่พบในปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต และในก้อนนิ่ว พบว่า band ของไขมันที่พบได้ในตัวอย่างปัสสาวะ (100%) คือ B1 (phospholipids), B8 (triacylglyceride) และ B11 (cholesterol ester) (ตารางที่ 10) โดยเฉพาะ B8 พบความเข้มของ band (intensity) สูงมากเมื่อเทียบกับ band อื่น ๆ (รูปที่ 15 ก) ขณะที่ band ของไขมันที่สกัดจากก้อนนิ่วที่พบได้ร้อยละ 100 ได้แก่ B1 (phospholipids), B6 (cholesterol), B7 (free fatty acid) และ B11 (cholesterol ester) band ที่พบได้บ่อย มากกว่า 90% ในไขมันที่สกัดได้จากก้อนนิ่ว คือ B9 และ B10 ซึ่งย้อมติดทั้ง  $I_2$  และ PAS สำหรับ B8 (triacylglyceride) พบได้บ่อยในไขมันจากก้อนนิ่วเช่นกันแต่ความเข้มของ band ต่ำกว่า B8 ที่พบในตัวอย่างไขมันจากปัสสาวะมากอย่างชัดเจน ไขมันอีกกลุ่มหนึ่งซึ่งพบได้บ่อยในก้อนนิ่ว คือ B2, B3, B4 และ B5 โดยเฉพาะไขมัน B3, B4 และ B5 พบได้บ่อยมาก (> 80%) และไขมันทั้ง 4 ชนิดนี้ย้อม

ติดสี PAS ชัดเจน ซึ่งบ่งชี้ว่าน่าจะมีโมเลกุลของน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ อย่างไรก็ตามการศึกษา  
ไม่สามารถบอกชนิดของไขมัน B2-B5 และ B9-B10 ได้

Lipid bands	Healthy (n=21)		Renal stone patient (n=34)		Stone matrix (n=34)	
	I <sub>2</sub> staining	PAS staining	I <sub>2</sub> staining	PAS staining	I <sub>2</sub> staining	PAS staining
Band 1 (phospholipids)	21 (100%)	2 (9.5%)	34 (100%)	10 (29.4%)	34 (100%)	34 (100%)
Band 2 (Unknown)	2 (9.5%)	0 (0%)	6 (17.6%)	0 (0%)	2 (5.9%)	15 (44.1%)
Band 3 (Unknown)	0 (0%)	3 (14.3%)	11 (32.4%)	3 (9.4%)	23 (67.6%)	28 (82.4%)
Band 4 (Unknown)	14 (43.8%)	4 (19.0%)	8 (23.5%)	7 (20.6%)	21 (61.8%)	31 (91.2%)
Band 5 (Unknown)	0 (0%)	UD	2 (5.9%)	UD	9 (26.5%)	32 (94.1%)
Band 6 (Cholesterol)	4 (12.5%)	UD	6 (17.6%)	UD	34 (100%)	14 (41.2%)
Band 7 (Free fatty acid)	UD	UD	UD	UD	34 (100%)	10 (29.4%)
Band 8 (Triacylglyceride)	21 (100%)	UD	34 (100%)	UD	31 (91.2%)	UD
Band 9 (Unknown)	2 (9.5%)	UD	3 (8.8%)	4 (11.8%)	31 * (91.2%)	29 (85.3%)
Band 10 (Unknown)	UD	UD	1 (2.9%)	1 (2.9%)	33 (97.1%)	24 (70.6%)
Band 11 (Cholesterol ester)	21 (100%)	UD	34 (100%)	UD	34 (100%)	UD

UD = Undetectable

\* = Band intensity is greatly lower than found in urine sample

ตารางที่ 10 แสดงความถี่การพบ band ของไขมันในปัสสาวะของกลุ่มควบคุม กลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ัวไต และในก้อนนี้ัว

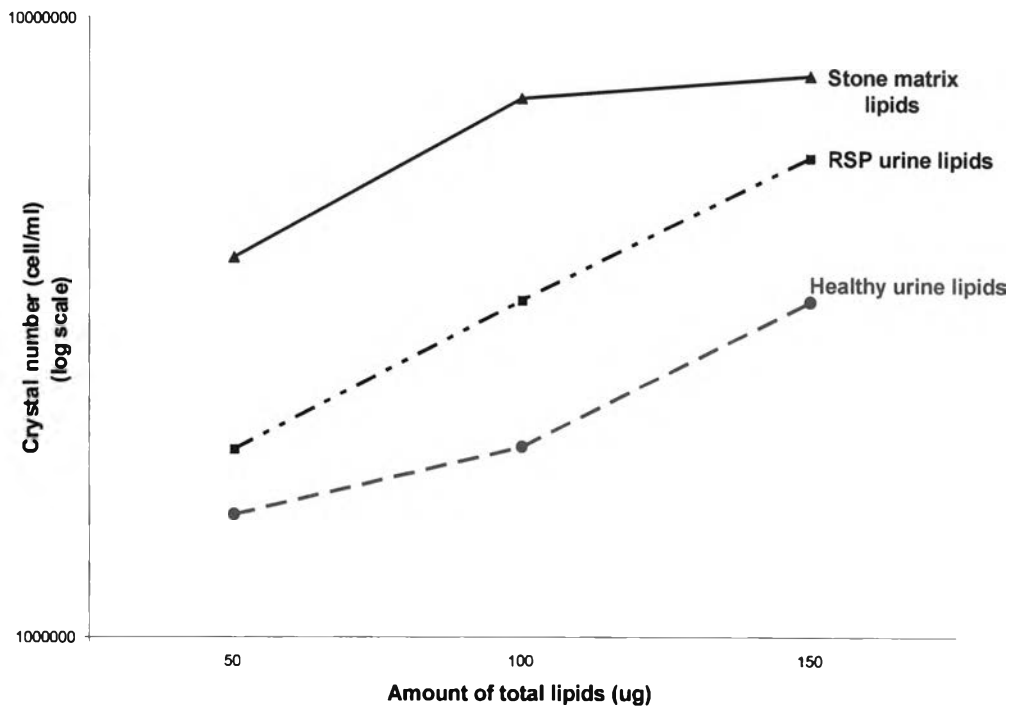
### ผลการวิเคราะห์หับทบาทในการก่อตัวของไขมันแต่ละชนิด

#### 1. การทดสอบการก่อผลึก (Crystallization assay)

จากการวิเคราะห์หับทบาทในการก่อผลึกของไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต และก้อนนิ่ว โดยใช้ความเข้มข้นของ total lipids ที่ 50, 100 และ 150 ไมโครกรัม โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate experiment) พบว่า จำนวนของผลึกที่เกิดขึ้นเมื่อเติมไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต และก้อนนิ่ว แปรผันตรงกับค่า OD 620 nm ที่วัดได้ และจำนวนผลึกที่เกิดขึ้นนี้มีค่าเพิ่มขึ้นตามค่าความเข้มข้นของ total lipids ที่สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบจำนวนผลึกที่เกิดขึ้นหลังจากเติมไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต และก้อนนิ่ว พบว่า ณ ความเข้มข้นของไขมัน 100 ไมโครกรัม ไขมันที่สกัดได้จากก้อนนิ่วก่อให้เกิดผลึกมากกว่าไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.014$ ) (ตารางที่ 11) total lipids ที่สกัดได้จากทั้งปัสสาวะและก้อนนิ่วมีความสามารถในการก่อผลึกเป็นแบบ dose-dependent ดังแสดงในรูปที่ 16

Total lipids from	OD 620 nm			Number of crystal (cell/ml)			
	Amount of lipids added	50 ug	100 ug	150 ug	50 ug (Mean ± SD)	100 ug (Mean ± SD)	150 ug (Mean ± SD)
Healthy urine		-0.003	0.022	0.050	1,583,333 ± 340,343	2,033,333 ± 256,580	3,483,333 ± 1,900,219
RSP urine		0.030	0.053	0.112	2,016,667 ± 611,010	3,500,000 ± 1,385,542	5,933,333 ± 1,250,333
Stone matrix		0.067	0.141	0.200	4,100,000 ± 2,422,292	7,383,333 ± 2,277,242	8,033,333 ± 2,764,658
<b>P value</b>					0.160	0.014*	0.090

ตารางที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยของการดูดกลืนแสง (OD 620nm) และจำนวนของผลึกของ total lipids ที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต และก้อนนิ่ว (\* = มีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบโดยใช้ ANOVA test,  $P < 0.05$ )



รูปที่ 16 กราฟแสดงความสามารถในการก่อผลึกนี้วแบบ dose-dependent ของ total lipids ที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต และก้อนนิ่ว โดยใช้ปริมาณของ total lipids ที่ 50, 100 และ 150 ไมโครกรัม

จากการวิเคราะห์บทบาทในการก่อผลึกของไขมันแต่ละชนิด โดยใช้ไขมันที่สกัดได้จากก้อนนิ่ว เป็นตัวแทนในการทดสอบและใช้ปริมาณไขมันที่ 100 ไมโครกรัม พบว่า ไขมันทุกชนิดมีความสามารถในการก่อผลึกแคลเซียมออกซาเลตได้ โดยเฉพาะไขมัน B1 (phospholipids) และ B6 (cholesterol) มีความสามารถในการก่อผลึกนี้วได้สูงมาก (ตารางที่ 12) บ่งชี้ว่าน่าจะมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดนิ่ว

Lipids bands	Crystallization assay	
	OD 620 nm	No of crystal (cell/ml)
Band 1 (phospholipids)	0.163	1,040,000
Pooled B2-B5 (unknown)	0.071	335,000
Band 6 (Cholesterol)	0.462	9,993,000
Band 7 (Free fatty acid)	0.002	50,000
Band 8 (Triacylglyceride)	0.062	410,000
Pooled B9-B10(unknown)	0.031	165,000
Band 11 (Cholesterol ester)	-0.013	90,000

ตารางที่ 12 แสดงความสามารถในการก่อผลึกของไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จากก้อนเนื้ว

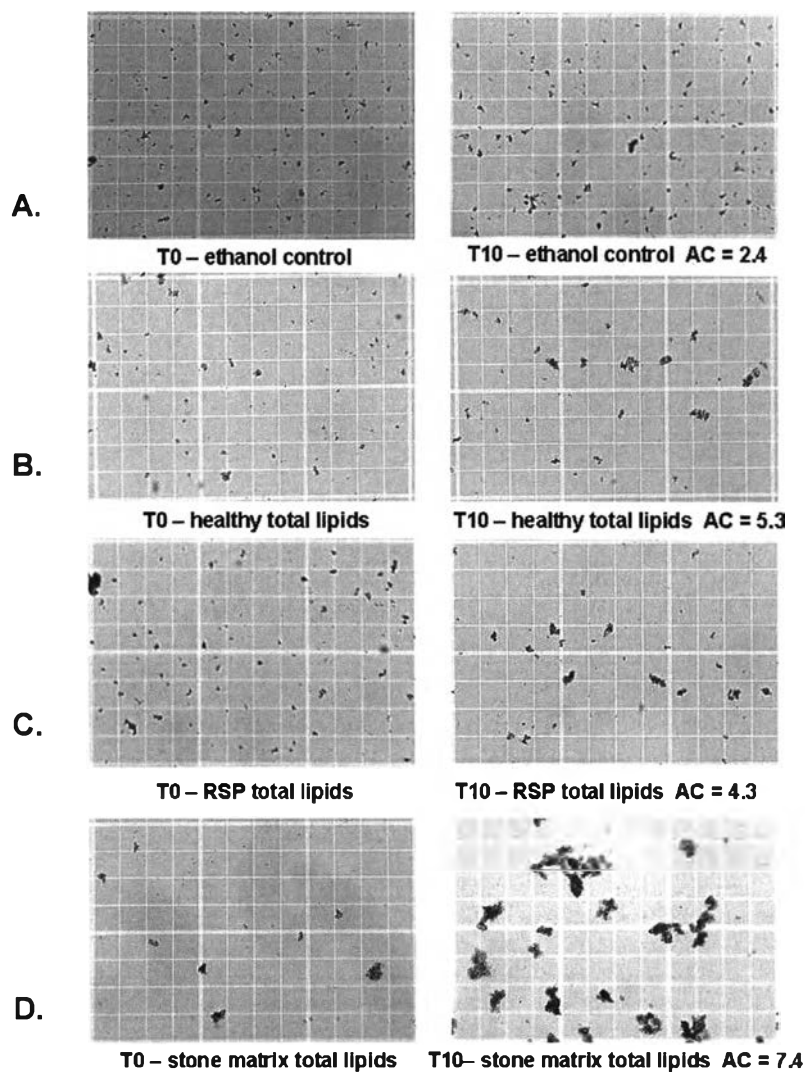
## 2. การทดสอบการเกาะกลุ่มของผลึก (Aggregation assay)

จากการวิเคราะห์บทบาทของการเกาะกลุ่มของผลึกของไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วไต และก้อนเนื้ว โดยใช้ความเข้มข้นของ total lipids ที่ 200 ไมโครกรัม และวัดการเกาะกลุ่มของผลึกจากค่า OD 620 nm ที่ลดลง ณ เวลา 0 นาที ( $AT_0$ ) และ 10 นาที ( $AT_{10}$ ) โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate) พบว่าการเกาะกลุ่มของผลึกหลังจากเติมไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วไต และก้อนเนื้ว จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที โดยที่การเกาะกลุ่มของผลึกของไขมันที่สกัดได้จากก้อนเนื้ว เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที อย่างไรก็ตามพบการเกาะกลุ่มของผลึกหลังจากเติมไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วไตเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่า AC (aggregation coefficient; AC) ซึ่งคำนวณจากสูตร  $AC = (AT_0 - AT_{10}) \times 1000/10$  ของทั้ง 3 กลุ่ม โดยใช้ ANOVA test พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ ) (ตารางที่ 13) และจากผลของการวิเคราะห์ multiple comparison โดยใช้ Bonferroni test พบว่าค่า AC ของไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วไตมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.072$ ) ขณะที่ค่า AC ของไขมันที่สกัดได้จากก้อนเนื้วสูงกว่าไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุม ( $P = 0.004$ ) และกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วไต ( $P < 0.001$ ) อย่างมีนัยสำคัญ ค่า AC ที่สูงขึ้นบ่งชี้ว่าการเกาะกลุ่มของผลึกมากขึ้น

Total lipids (200 µg)	Aggregation assay			P value
	AT <sub>0</sub> เฉลี่ย	AT <sub>10</sub> เฉลี่ย	Aggregation coefficient (AC) = (AT <sub>0</sub> - AT <sub>10</sub> ) x 1000/10	
1. Healthy urine lipids	0.348	0.295	5.3	< 0.001*
2. RSP urine lipids	0.353	0.310	4.3	
3. Stone matrix lipids	0.353	0.279	7.4	

ตารางที่ 13 แสดงผลการวิเคราะห์หับทบาทในการเกาะกลุ่มของผลึกนิ้วของไขมัน เปรียบเทียบระหว่างไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุม กลุ่มผู้ป่วยโรคนี้่วไต และก้อนนี้่ว (\* = มีนัยสำคัญทางสถิติ ทดสอบโดยใช้ ANOVA test, P<0.05)

รูปที่ 17 แสดงภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (light microscope) กำลังขยาย 100 เท่า โดยเปรียบเทียบความสามารถในการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของผลึกนิ้วของไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้่วไต และจากก้อนนี้่ว



รูปที่ 17 แสดงผลของไขมันต่อการเกาะกลุ่มของผลึกเปรียบเทียบกับระหว่างไขมัน (200 ไมโครกรัม) ที่สกัดได้จากปีศาจวะของกลุ่มควบคุม (healthy total lipids) และกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้่วไต (RSP total lipids) และก้อนนี้่ว (stone matrix total lipids) ( $AC = \text{Aggregation coefficient} = (AT_{0\text{min}} - AT_{10\text{min}}) \times 1000/10$ ) (กำลังขยาย 100 เท่า): Panel A = การเกาะกลุ่มของผลึกในหลอดควบคุมเอทานอล, Panel B = การเกาะกลุ่มของผลึกเมื่อเติมไขมันที่สกัดได้จากปีศาจวะของกลุ่มควบคุม, Panel C = การเกาะกลุ่มของผลึกเมื่อเติมไขมันที่สกัดได้จากปีศาจวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้่วไต และ Panel D = การเกาะกลุ่มของผลึกเมื่อเติมไขมันที่สกัดได้จากก้อนนี้่ว

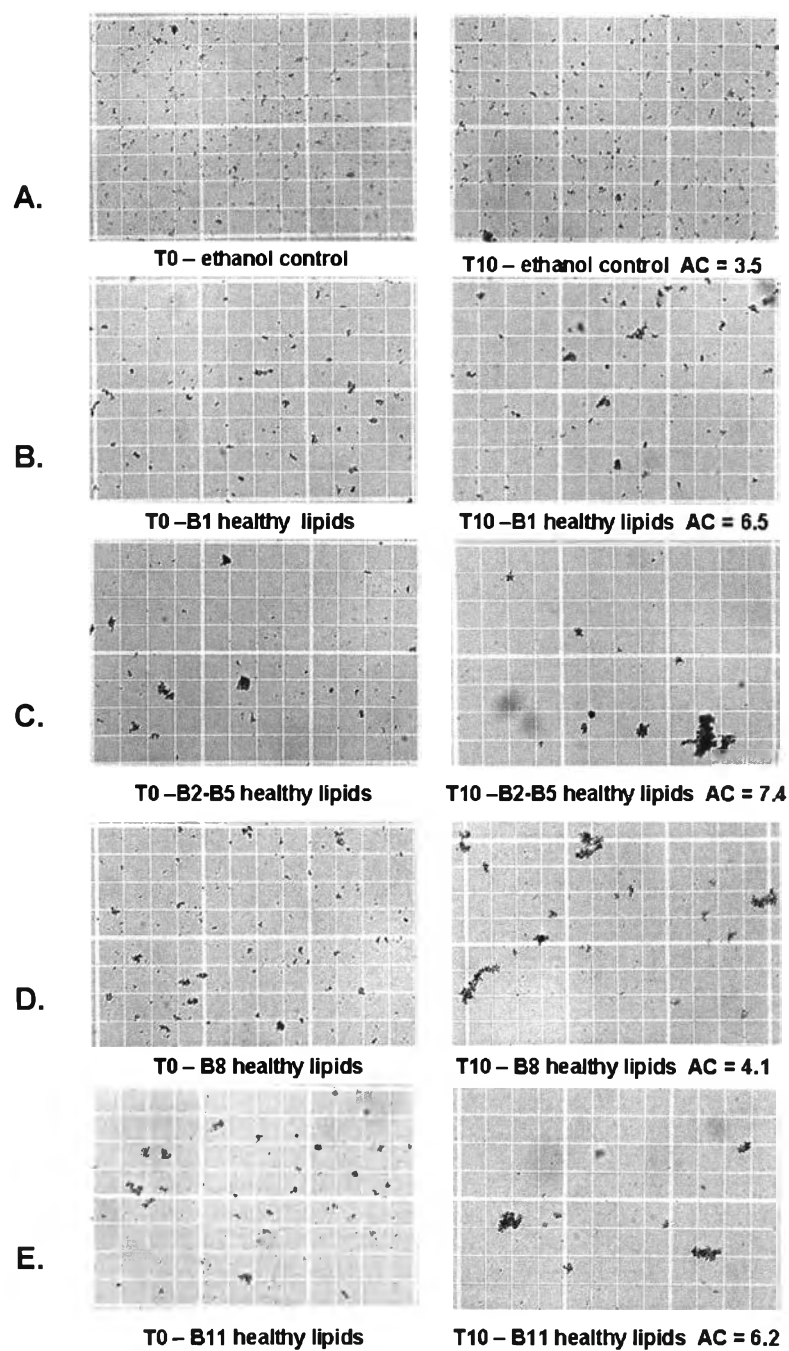


จากการวิเคราะห์หีบหยาของการเกาะกลุ่มของผลึกของไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จาก ปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต และก้อนนิ่ว โดยใช้ความเข้มข้นของไขมันที่ 200 ไมโครกรัม พบว่าการเกาะกลุ่มของผลึกภายหลังการเติมไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จาก ปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต และก้อนนิ่ว จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที ตารางที่ 14 แสดงค่า AC ของไขมันแต่ละชนิดที่แยกได้จากปัสสาวะและก้อนนิ่ว พบว่าไขมันทุกชนิดสามารถกระตุ้นการเกาะกลุ่มของผลึกแคลเซียมออกซาเลตได้ ไขมันที่มีผลส่งเสริมการเกาะกลุ่มของผลึกแคลเซียมออกซาเลตได้สูง ได้แก่ Pooled B2-B5 (AC เฉลี่ย = 6.9), B6 (AC เฉลี่ย = 6.3), B7 (AC = 6.3), Pooled B9-B10 (AC = 6.7) และ B11 (AC เฉลี่ย = 6.9) สำหรับรูปที่ 18-20 เป็นภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ (light microscope) กำลังขยาย 100 เท่า เปรียบเทียบความสามารถ ในการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของผลึกนิ่วของไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จาก ปัสสาวะของกลุ่ม ควบคุม (รูปที่ 18) กลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต (รูปที่ 19) และจากก้อนนิ่ว (รูปที่ 20) การศึกษานี้พบว่า การเกาะกลุ่มของผลึกของไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วย โรคนิ่วไต และก้อนนิ่ว ไม่แตกต่างกันมากนัก

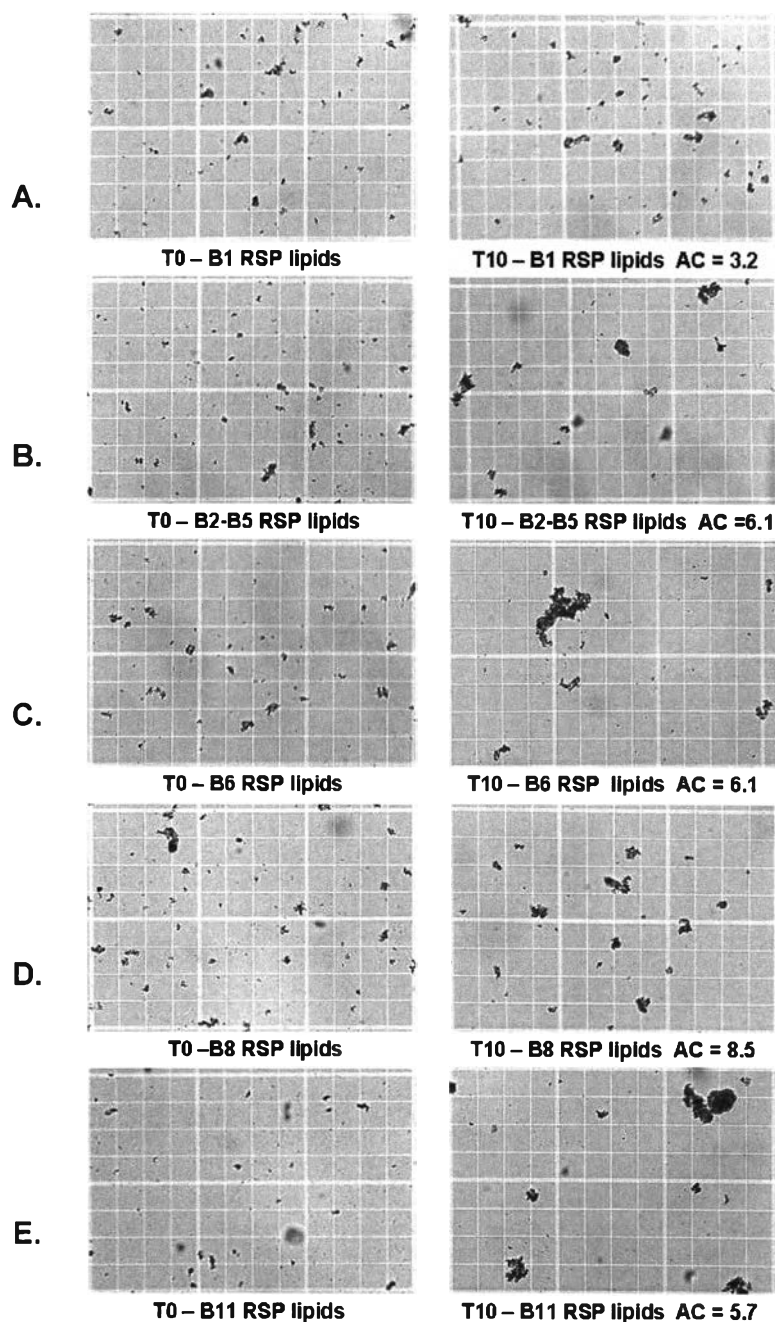
Lipid bands	Aggregation Coefficient (AC)			AC เฉลี่ย
	Healthy	Renal Stone Patient	Stone matrix	
Band 1 (phospholipids)	6.5	3.2	3.8	4.5
Pooled B2-B5 (unknown)	7.4	6.1	7.2	6.9
Band 6 (Cholesterol)	ND	6.1	6.4	6.3
Band 7 (Free fatty acid)	ND	6.3	6.3	6.3
Band 8 (Triacylglycerol)	4.1	8.5	4.3	5.6
Pooled B9-B10 (unknown)	ND	ND	7.2	6.7
Band 11 (Cholesterol ester)	6.2	5.7	8.8	6.9

ND = Not determined

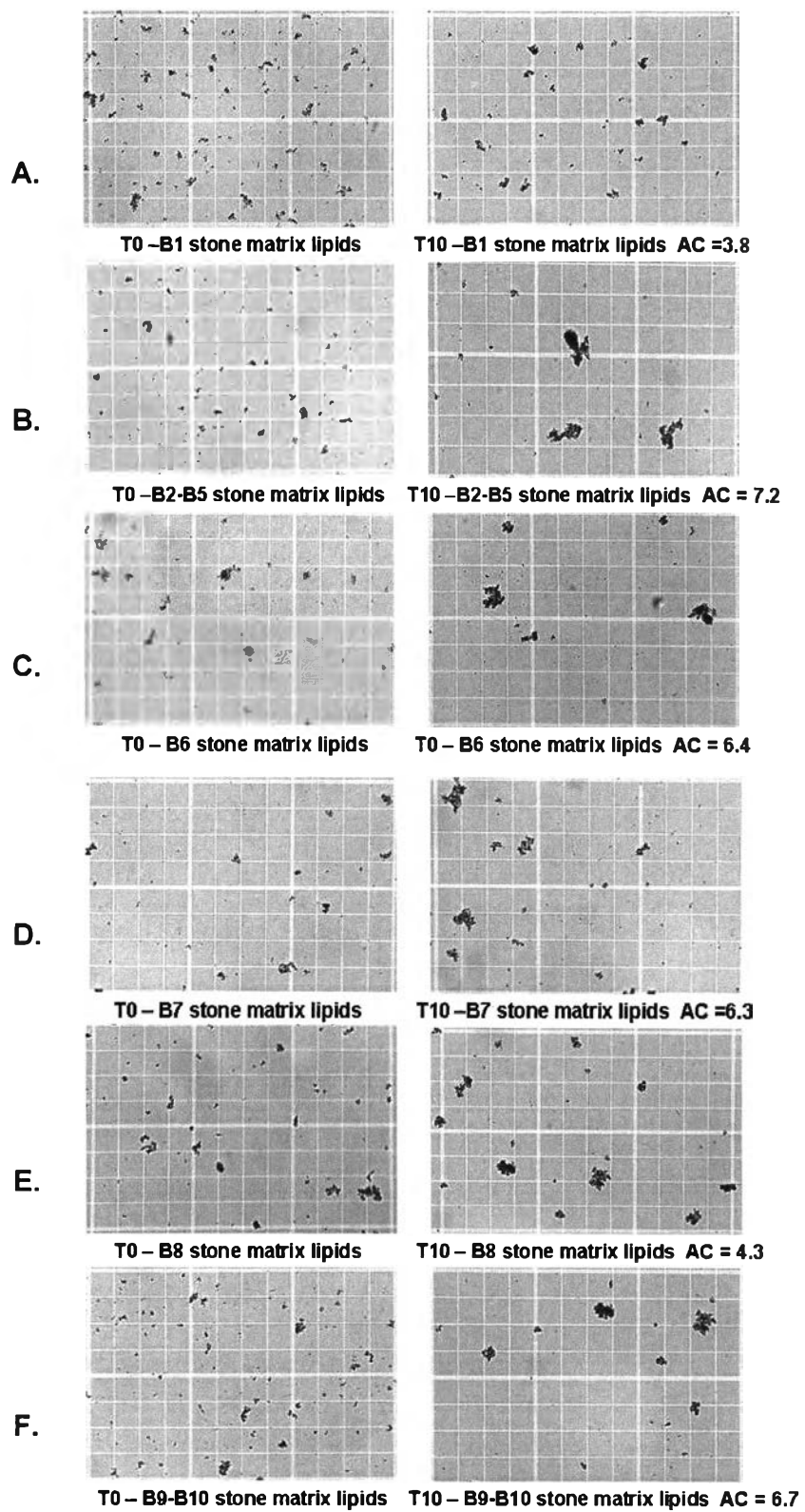
ตารางที่ 14 แสดงค่า Aggregation Coefficient ของไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่ม ควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต และก้อนนิ่ว

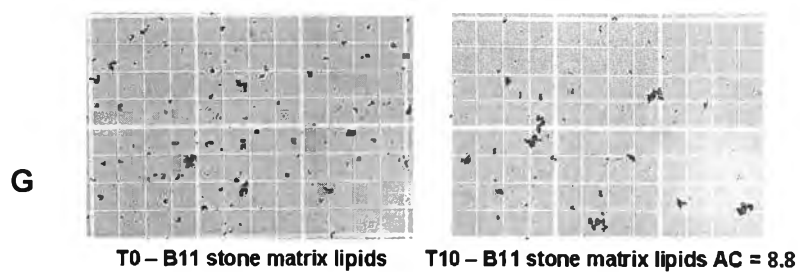


รูปที่ 18 แสดงผลต่อการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของผลึกของไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุม โดยใช้ความเข้มข้นของ total lipids ที่ 200 ไมโครกรัม (กำลังขยาย 100 เท่า): Panel A = การเกาะกลุ่มของผลึกในหลอดควบคุมเอทานอล, ผลของไขมัน B1 (Panel B), B2-B5 (Panel C), B8 (Panel D), B11 (Panel E) ที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุม ต่อการเกาะกลุ่มของผลึกแคลเซียมออกซาเลต



รูปที่ 19 แสดงผลต่อการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของผลึกของไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ไต โดยใช้ความเข้มข้นของ total lipids ที่ 200 ไมโครกรัม (กำลังขยาย 100 เท่า): แต่ละ Panel แสดงผลของการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของผลึกไขมัน B1 (Panel A), B2-B5 (Panel B), B6 (Panel C), B8 (Panel D) และ B11 (Panel E) ที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ไต ต่อการเกาะกลุ่มของผลึกแคลเซียมออกซาเลต





รูปที่ 20 แสดงผลต่อการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของผลึกของไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จากก้อนนิ่วของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไต โดยใช้ความเข้มข้นของ total lipids ที่ 200 ไมโครกรัม (กำลังขยาย 100 เท่า): แต่ละ Panel แสดงผลของการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของผลึกไขมัน B1 (Panel A), B2-B5 (Panel B), B6 (Panel C), B7 (Panel D), B8 (Panel E), B9-B10 (Panel F) และ B11 (Panel G) ที่สกัดได้จากก้อนนิ่ว ต่อการเกาะกลุ่มของผลึกแคลเซียมออกซาเลต